第1卷第4期
1980年11月

动物学研究
ZOOLOGICAL RESEARCH

Vol. 1, NO. 4
Nov., 1980

离心分析用蔗糖密度梯度简易制备法

A SIMPLE METHOD FOR PREPARING LINEAR SUCROSE DENSITY GRADIENT USED FOR CENTRIFUGAL ANALYSIS

夏 邦 颖

（中国科学院动物研究所）

Hsia Pang-ying

(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)

在生化分析研究工作中，经常需要使用蔗糖密度梯度离心分析。制备蔗糖密度梯度的装置，在国外多已商品供应，如瑞典LKB公司出售的密度梯度分配器就是比较完善的工具。在国内尚无成品供应，由于在研究工作中需要使用蔗糖密度离心分析，就促使设计制作小型简易蔗糖密度梯度分配器，如附图1所示.

蔗糖密度梯度分配器分下列几个部分：

①蔗糖梯度母液玻璃容器：每组由两个直径相等的玻璃管组成，一组玻管内径为0.8cm，高8cm，可为5ml离心管制备蔗糖梯度溶液。另一组玻管内径为2.6cm，高9cm，可为30ml的离心管制备蔗糖梯度溶液，或可供70ml以下线性梯度溶液洗脱小型层析柱用。每组管子其中一只下部烧结上两个对称的小玻管开口，另一只仅烧结一个小玻管开口，两玻管之间用聚乙烯管相连，用螺旋夹夹住。

②直流小搅拌器部分：用一个上海玩具元件二厂出产的D－45型直流电动机带动一段白金丝环作为小搅拌器。电源部分为两节1号电池。由于找不到50Ω或再小一些的电位器，暂用100Ω电位器，串联于电路中，用以调节直流电动机的转速。直流小搅拌器线路装置如附图2所示.

使用方法：先在二玻璃管中分别盛入一定体积的两种浓度之蔗糖溶液。闭合电路，调节电位器，起动直流电动机。旋松螺旋夹，使二玻璃管相通。开动连于玻管出口聚乙烯管上的蠕动泵(北京青云仪器厂生产)，使蔗糖密度梯度溶液沿离心管壁缓缓注入离心管中。然后在梯度溶液上面轻轻铺上离心分析样品，将此离心管装于甩头上，进行离心分析。

本文于1980年4月18日收到。

笔者利用上述装置，制备5—20%(W/V)蔗糖密度梯度，分析家蚕丝腺rRNA的亚单位(夏邦颖等，1979)；还制备10—50%(W/V)蔗糖密度梯度，分析家蚕后丝腺的多核糖体(夏邦颖等，1980)。此外，尚可用做为小体积的线性密度梯度洗脱装置，如图3所示，利用羟基磷灰石柱和0.1M—0.4M线性磷酸缓冲液分离rRNA和DNA混合样品。

参 考 文 献

夏邦颖 郭 郛 1979 家蚕丝腺和卵巢核糖体核酸的理化性质 生物化学与生物物理学报 11(2):105—112.

夏邦颖 郭 郛 1980 家蚕后丝腺多聚核糖体的研究 中国科学院动物研究所论文集刊第一集（待发表）

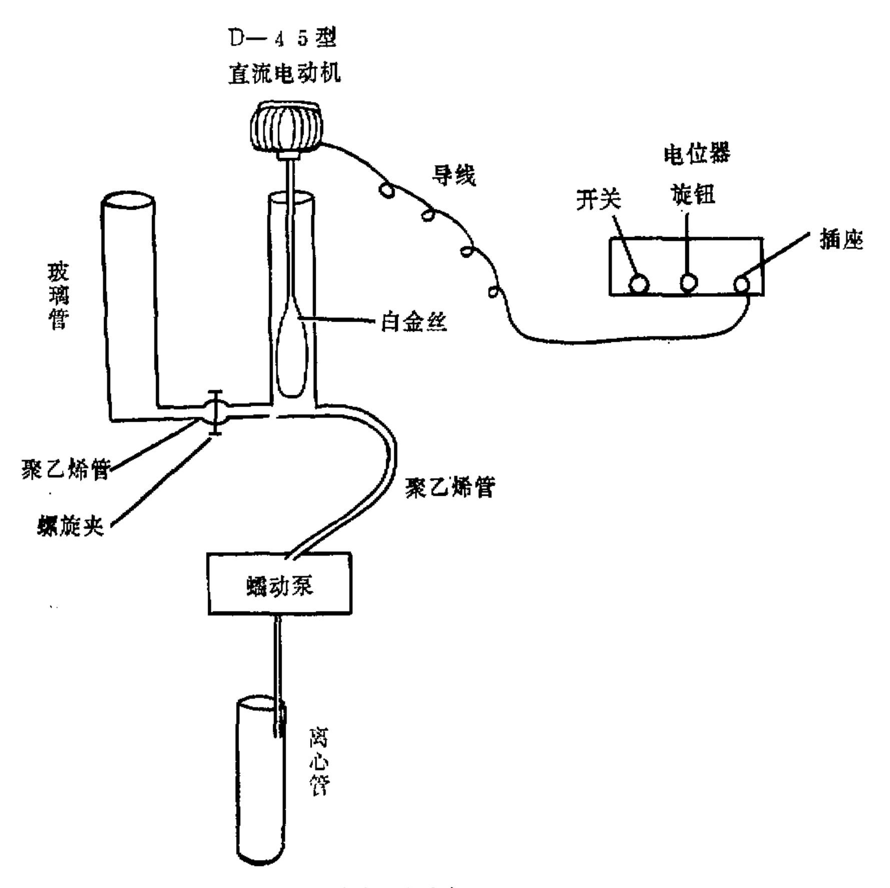


图1　小型蔗糖密度梯度分配器示意图

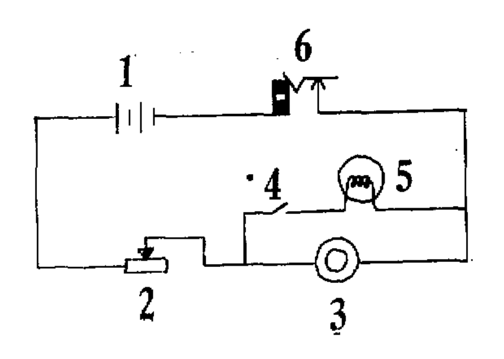


图2　直流小搅拌器线路装置图

1．直流电源，两节1号电池
2．电位器
3．直流电动机，D—45型；或用其他型号
4．开关
5．灯泡
6．插头

黑线部分为导线

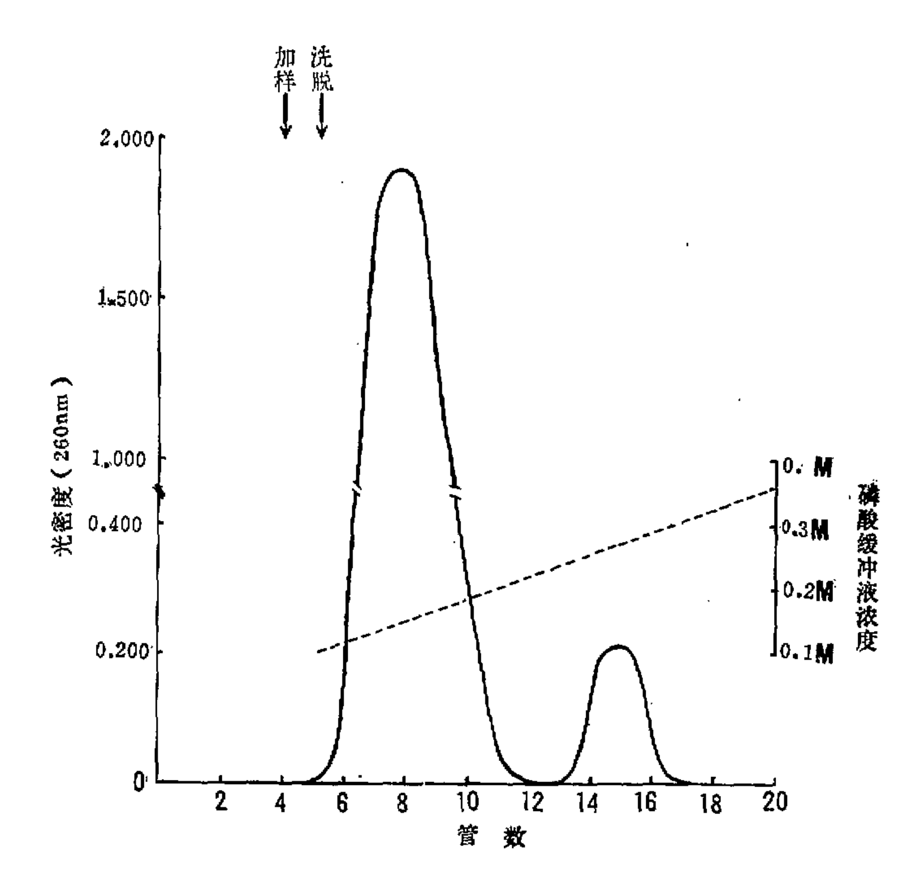


图3　利用羟基磷灰石柱分离实验混合的家蚕丝腺γRNA和鼠睾丸DNA

实验条件：羟基磷灰石柱 1.15×7.5cm（柱内径×柱长度）

样品：家蚕丝腺γRNA 700γ＋鼠睾丸DNA 77γ

洗脱溶液：0.1—0.4M 线性磷酸缓冲液（32ml＋32ml共64ml）

收集：每3.5ml收集于1管，O.D260nm测定洗脱曲线

利用Abbe折射仪测定各管磷酸缓冲液浓度

结　　果：第一峰区为γRNA，第二峰为DNA，分离效果良好。